Productos Elucigene® QST*R®
Instrucciones de uso

Producto	Tamaño	Código de catálogo
Elucigene QST*R*plus*v2	50 pruebas	AN0PLB2
Elucigene QST*R	50 pruebas	AN003B2
Elucigene QST*R-XYv2	50 pruebas	AN0XYB2
Elucigene QST*R-13	10 pruebas	AN013BX
Elucigene QST*R-18	10 pruebas	AN018BX
Elucigene QST*R-21	10 pruebas	AN021BX

Para uso diagnóstico «in vitro»

Fabricado por Elucigene Diagnostics.
Elucigene Diagnostics
Greenheys House
Pencroft Way
Manchester Science Park
Manchester
M15 6JJ

Para ventas, servicio al cliente y asistencia técnica:
T: +44 (0) 161 669 8122
F: +44 (0) 161 669 8129
E: enquiries@elucigene.com
E: techsupport@elucigene.com

Elucigene Diagnostics is the trading name of Delta Diagnostics (UK) Limited., a company registered in England and Wales, registration number 8696299.

Elucigene QST*R

La línea de productos Elucigene QST*R son ensayos multiplexados basados en DNA para la determinación prenatal rápida del estado de aneuploidía en las tres trisomías autosómicas viables más frecuentes y en los cromosomas sexuales X e Y. Los kits Elucigene QST*R están disponibles en los formatos indicados a continuación. Para obtener más información sobre los kits de la línea QST*R, visite www.elucigene.com/products

Uso indicado

QST*R*plus*v2

Para el diagnóstico cuantitativo *in vitro* sistemático de las tres trisomías autosómicas viables más frecuentes: la trisomía 13 (síndrome de Patau), la trisomía 18 (síndrome de Edwards) y la trisomía 21 (síndrome de Down). El kit también incluye marcadores de los cromosomas X e Y y el marcador TAF9L para la determinación del sexo. El método empleado por el kit Elucigene QST*R*plus*v2 es la técnica RCP-CF (Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente). Los dispositivos están indicados para utilizarse en DNA extraído de muestras de líquido amniótico o vellosidades coriónicas tomadas durante la amniocentesis. La población diana es la de mujeres embarazadas que se han evaluado como de «alto riesgo» de tener un feto afectado mediante procedimientos diagnósticos bioquímicos o ecográficos, o que se han evaluado como de «riesgo» debido a sus antecedentes familiares o a su edad materna. El dispositivo está indicado para utilizarse junto con otros procedimientos diagnósticos para respaldar o descartar el diagnóstico clínico propuesto.
El dispositivo es solamente para uso profesional en entornos de laboratorios moleculares o de citogenética.

QST*R

Para el diagnóstico cuantitativo *in vitro* sistemático de las tres trisomías autosómicas viables más frecuentes: la trisomía 13 (síndrome de Patau), la trisomía 18 (síndrome de Edwards) y la trisomía 21 (síndrome de Down). El método empleado por el kit Elucigene QST*R es la técnica RCP-CF (Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente). Los dispositivos están indicados para utilizarse en DNA extraído de muestras de líquido amniótico o vellosidades coriónicas tomadas durante la amniocentesis. La población diana es la de mujeres embarazadas que se han evaluado como de «alto riesgo» de tener un feto afectado mediante procedimientos diagnósticos bioquímicos o ecográficos, o que se han evaluado como de «riesgo» debido a sus antecedentes familiares o a su edad materna. El dispositivo está indicado para utilizarse junto con otros procedimientos diagnósticos para respaldar o descartar el diagnóstico clínico propuesto.
El dispositivo es solamente para uso profesional en entornos de laboratorios moleculares o de citogenética.

QST*R-XYv2
Para el diagnóstico cuantitativo in vitro sistemático del estado de los cromosomas sexuales, incluidas las aneuploidías frecuentes. El método empleado por el kit Elucigene QST*R-XYv2 es la técnica RCP-CF (Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente). Los dispositivos están indicados para utilizarse en DNA extraído de muestras de líquido amniótico o vellosidades coriónicas tomadas durante la amniocentesis. La población diana es la de mujeres embarazadas que se han evaluado como de «alto riesgo» de tener un feto afectado mediante procedimientos diagnósticos bioquímicos o ecográficos, o que se han evaluado como de «riesgo» debido a sus antecedentes familiares o a su edad materna. El dispositivo está indicado para utilizarse junto con otros procedimientos diagnósticos para respaldar o descartar el diagnóstico clínico propuesto.
El dispositivo es solamente para uso profesional en entornos de laboratorios moleculares o de citogenética.

QST*R-13, QST*R-18, QST*R-21
Kits complementarios que contienen marcadores autosómicos adicionales para uso junto con QST*R o QST*R*plus*v2 para el diagnóstico *in vitro* cuantitativo sistemático de las tres trisomías autosómicas viables más frecuentes: la trisomía 13 (síndrome de Patau), la trisomía 18 (síndrome de Edwards) y la trisomía 21 (síndrome de Down), respectivamente.
Estos kits están disponibles para análisis cromosómicos ampliados, cuando sean necesarios, y para la confirmación de resultados positivos. El método empleado por estos kits es la técnica RCP-CF (Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente). Los dispositivos están indicados para utilizarse en DNA extraído de muestras de líquido amniótico o vellosidades coriónicas tomadas durante la amniocentesis. La población diana es la de mujeres embarazadas que se han evaluado como de «alto riesgo» de tener un feto afectado mediante procedimientos diagnósticos bioquímicos o ecográficos, o que se han evaluado como de «riesgo» debido a sus antecedentes familiares o a su edad materna. El dispositivo está indicado para utilizarse junto con otros procedimientos diagnósticos para respaldar o descartar el diagnóstico clínico propuesto.
El dispositivo es solamente para uso profesional en entornos de laboratorios moleculares o de citogenética.

Resumen y explicación

El síndrome de Down, el síndrome de Edwards y el síndrome de Patau son las tres trisomías autosómicas viables más frecuentes. Las incidencias en nacidos vivos son aproximadamente 1:700, 1:3000 y 1:21.700, respectivamente. Las aneuploidías de los cromosomas sexuales más frecuentes son el síndrome de Turner en mujeres y el síndrome de Klinefelter en varones. La causa más frecuente del síndrome de Turner es la monosomía del cromosoma X (cariotipo 45, X), y la del síndrome de Klinefelter, una copia adicional del cromosoma X (cariotipo 47, XXY). Las incidencias en nacidos vivos son entre 1:2000 y 1:5000 mujeres en el caso del síndrome de Turner y entre 1:500 y 1:650 varones en el del síndrome de Klinefelter.

El riesgo de tener un hijo con síndrome de Down aumenta considerablemente con la edad de la madre, de aproximadamente 1:1600 a los 20-24 años, a 1:200 a los 35 años, y a 1:19 a más de 45 años. A las mujeres embarazadas se les ofrece siempre una prueba de síndrome de Down en el primer trimestre del embarazo. Una prueba estándar es la denominada prueba «OSCAR», **O**ne **S**top **C**linical **A**ssessment of **R**isk (Evaluación clínica integrada del riesgo), que se realiza entre las semanas 10 y 13,5 del embarazo. Esta combina dos marcadores bioquímicos, la hCG (gonadotropina coriónica humana) beta libre y la PAPP-A (proteína A plasmática asociada al embarazo), con la medición del grosor del pliegue de la nuca fetal (translucidez de la nuca) (1). La combinación de

los resultados de estas tres pruebas ofrece una cifra de riesgo global. A continuación, a las mujeres identificadas como con mayor riesgo de tener un hijo con síndrome de Down se les ofrece una amniocentesis para comprobar directamente la anomalía. La amniocentesis es una prueba invasiva e incluye la introducción de una aguja, guiada por ecografía, en el saco amniótico que rodea al feto. Se extrae y analiza una pequeña muestra, normalmente de 10-20 ml, de líquido amniótico que contiene células fetales.

El nombre de síndrome de Down viene del Dr. John Langdon Down, y se introdujo en 1866, aunque ya se había descrito anteriormente. Es causado por una trisomía de la totalidad o de parte del cromosoma 21 (2). Además de una discapacidad cognitiva de mayor o menor grado, los individuos con síndrome de Down suelen compartir una serie de características comunes, como hipotonía (bajo tono muscular), lengua prominente, ojos en forma de almendra debido a un pliegue epicántico, fisuras palpebrales oblicuas ascendentes, pliegue palmar único y extremidades más cortas de lo normal. También tienen un mayor riesgo de defectos cardiacos congénitos y de presentar una forma de la enfermedad de Alzheimer al envejecer.

El síndrome de Edwards fue descrito por primera vez por el Dr. John Edwards en 1960. Es causado por una trisomía de la totalidad o de parte del cromosoma 18. Como en el síndrome de Down, el riesgo de tener un niño con síndrome de Edwards aumenta con la edad materna. Las características clínicas típicas incluyen bajo peso al nacer, defectos cardiacos, malformación gastrointestinal, malformación urogenital, problemas neurológicos y anomalías craneofaciales. La mediana del tiempo de supervivencia es de unos 4 días.

El nombre síndrome de Patau viene del Dr. Klaus Patau, que describió la enfermedad con la asociación cromosómica. Es causado por una trisomía de la totalidad o de parte del cromosoma 13. Los bebés con síndrome de Patau están gravemente afectados por diversas anomalías. Las características típicas incluyen retraso del crecimiento intrauterino, bajo peso al nacer, defectos cardiacos congénitos, microcefalia, holoprosencefalia con fisura palatina y microftalmia, apnea central, polidactilia y pies en mecedora. La mediana del tiempo de supervivencia es de unos 2,5 días.

El síndrome de Turner en mujeres es causado por una monosomía del cromosoma X. Aproximadamente el 98 % de los embarazos de fetos con síndrome de Turner acabarán en aborto espontáneo. Las niñas supervivientes muestran una serie de características típicas, como corta estatura, amenorrea primaria y cuello palmeado (derivado de higroma quístico, un saco relleno de líquido, en el útero). También suelen sufrir cardiopatía congénita y pueden tener riñones en forma de herradura.

El síndrome de Klinefelter en varones es causado por la presencia de una copia adicional del cromosoma X. Los varones con síndrome de Klinefelter son estériles y pueden tener una discapacidad cognitiva leve. Suelen ser más altos que la media, pueden presentar ginecomastia que requiera reducción quirúrgica, y tienen un mayor riesgo de osteoporosis debido a los menores niveles de testosterona.

La prueba QST*R*plus*v2 incluye marcadores para los tres autosomas y para X e Y. Está diseñada para detectar aneuploidías de cromosomas completos en estos cromosomas, pero no detectará reorganizaciones estructurales equilibradas ni distinguirá entre la aneuploidía causada por un evento de no disyunción y una reorganización no equilibrada.

Principios del procedimiento

El método empleado por los kits Elucigene QST*R utiliza la técnica RCP-CF (Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente) (3-7). Utilizando amplificación por RCP, los cebadores marcados con colorante fluorescente se dirigen a regiones diana altamente polimórficas de la secuencia de DNA denominadas repeticiones cortas en tándem (STR) que se encuentran en los cromosomas de interés. Cada marcador de STR diana es específico del cromosoma en el que se encuentra y, así, el número de copias del marcador de STR puede ofrecer un diagnóstico del número de copias del cromosoma. Se han seleccionado marcadores de STR informativos que muestran una alta heterogeneidad, de forma que pueda determinarse fácilmente el número de copias. Una muestra diploide normal tiene el complemento normal de dos de cada uno de los cromosomas somáticos; así, dos alelos de una STR específica de un cromosoma son determinados por la técnica de RCP-CF como dos picos en una razón 1:1. La observación de un alelo de STR extra como un patrón de tres picos en una razón 1:1:1 o un patrón de dos picos en una razón de picos 2:1 o 1:2 es un indicador diagnóstico de la presencia de una secuencia adicional que a su vez puede representar un cromosoma adicional, como en el caso de una trisomía.

Los productos amplificados de la técnica de RCP-CF se analizan cuantitativamente en un analizador genético de electroforesis capilar para determinar el número de copias de los marcadores de STR analizados.

Advertencias y precauciones

1. El control de DNA normal incluido en los kits se ha analizado independientemente y se ha observado que da negativo para el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC) y los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) 1 y 2.

2. Debe tenerse precaución al manipular material de origen humano. Todas las muestras deben considerarse potencialmente infecciosas. Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que el VHB, el VHC, el VIH u otros agentes infecciosos estén ausentes.

3. La manipulación de muestras y componentes de pruebas, así como su uso, almacenamiento y eliminación, deben realizarse de acuerdo con los procedimientos definidos por la pauta o normativa de seguridad nacional pertinente relativa a peligros biológicos.

4. En línea con las buenas prácticas de laboratorio actuales, los laboratorios deben procesar sus propias muestras de control de calidad interno de genotipos conocidos en cada ensayo, para así poder evaluar la validez del procedimiento.

5. Si la caja del kit está dañada, es posible que el contenido esté dañado también; no utilice el kit y póngase en contacto con el servicio al cliente.

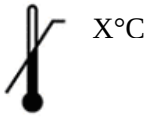
Símbolos utilizados en las etiquetas

Los símbolos utilizados en todas las etiquetas y envases se ajustan al estándar armonizado ISO15223

Fabricante

Número de pruebas

Consultar las instrucciones de uso



Almacenar por debajo de la temperatura indicada

Usar antes de la fecha indicada

Código de catálogo

Número de lote

Dispositivo médico para diagnóstico «in vitro»

Materiales suministrados

Almacene todos los componentes por debajo de –20 °C

Cada kit contiene:

(TA): 2 x 250 µl (50 pruebas) o 1 x 100 µl (10 pruebas) de mezcla de reacción QST*R, con cebadores para amplificar una serie de marcadores de STR (repeticiones cortas en tándem). Para obtener detalles sobre los marcadores de cada kit, consulte el apéndice 2. La mezcla de reacción QST*R también contiene polimerasa de DNA y trifosfatos de desoxinucleótidos en tampón.

Kit	**Viales para RCP de 0,2 ml**	**N.º de pieza del componente**
Elucigene QST*R*plus*v2	Transparentes	404454
Elucigene QST*R	Naranja	404442
Elucigene QST*R-XYv2	Rosados	404457
Elucigene QST*R-13	Verdes	404445
Elucigene QST*R-18	Violeta	404448
Elucigene QST*R-21	Amarillos	404451

(DC): 1 vial de 50 µl de control de DNA, diploide para los marcadores detectados por Elucigene QST*R:

Kit	**N.º de pieza del componente**
Elucigene QST*R*plus*v2	404485
Elucigene QST*R	404485
Elucigene QST*R-XYv2	404485
Elucigene QST*R-13	404485
Elucigene QST*R-18	404485
Elucigene QST*R-21	404485

50 (10) Viales para RCP de 0,2 ml, codificados con colores como se indica más arriba.

Preparación y almacenamiento de los kits

Tras abrir el kit, se recomienda dispensar la mezcla de reacción en los viales para RCP de 0,2 ml suministrados (o equivalentes) en volúmenes de 10 µl y congelados a –20 °C. Asegúrese de que los contenidos de los viales se hayan descongelado y mezclado bien antes de la dispensación.

Materiales necesarios pero no suministrados

Generales
Consumibles de laboratorio: guantes y puntas de pipeta.
Equipo de laboratorio: pipetas de precisión (2 juegos: 1 para la manipulación preamplificación y 1 para la manipulación postamplificación; preferentemente pipetas de desplazamiento positivo), ropa protectora, mezclador vórtex, microcentrifugadora y centrifugadora de placas de microvaloración de 96 pocillos.

Extracción del DNA
Preparación del DNA: matriz InstaGene (Bio-Rad Laboratories, n.º de cat. 732-6030), agua desionizada estéril.

Amplificación por RCP
Termociclador para alojar placas de microvaloración de 96 pocillos o viales de 0,2 ml con un margen de error en la temperatura de +/-1 °C entre 33 °C y 100 °C y una uniformidad de temperatura estática de +/-1 °C.

Electroforesis capilar
Electroforesis capilar: estándar de tamaño GeneScan 500 LIZ (ABI, n.º de cat. 4322682), GeneScan 600 LIZ (ABI, n.º de cat. 4366589) o GeneScan 600v2 LIZ (ABI, n.º de cat. 4408399), estándar de matriz DS-33 (juego de colorantes G5) (ABI, n.º de cat. 4345833), polímero POP-7 (ABI, n.º de cat. 4352759), 10x Genetic Analyzer Buffer (tampón de analizador genético) (ABI, n.º de cat. 402824) y formamida Hi-Di (ABI, n.º de cat. 4311320).

Analizadores genéticos Applied Biosystems ABI 3130 y 3500 (con software GeneMapper), arsenal capilar de 36 cm (arsenal capilar de 50 cm para analizador genético 3500), placas ópticas de 96 pocillos, tabiques de 96 pocillos, casetes de 96 pocillos.

Análisis de los datos
Es necesario uno de los siguientes paquetes de software de análisis de datos: GeneMapper 3.7 (Applied Biosystems Inc.) o superior, o GeneMarker 1.65 (SoftGenetics LLC) o superior.

Documentación adicional de Elucigene QST*R
Estas instrucciones de uso incluyen una sección básica sobre la interpretación de los resultados obtenidos. Hay una **Guide to Interpretation** (Guía de la interpretación) complementaria con ejemplos y un glosario, y una **Guide to Analysis** (Guía del análisis) disponibles en el sitio web de Elucigene Diagnostics:
www.elucigene.com/products

Recogida y almacenamiento de las muestras
Deberán utilizarse muestras de vellosidades coriónicas o de líquido amniótico. Se ha informado de que los dispositivos de recogida de muestras en ocasiones han resultado perjudiciales para la integridad de determinados analitos y podrían interferir con algunas tecnologías metodológicas. Se recomienda que cada usuario se asegure de que el dispositivo elegido se utilice de acuerdo con las instrucciones del fabricante y de que tanto los dispositivos de recogida de muestras como los métodos de preparación de DNA sean compatibles con esta prueba.

Extracción del DNA

Los kits Elucigene QST*R están validados mediante el método de extracción de DNA de la matriz InstaGene y permiten realizar la prueba en un solo tubo, lo que elimina la necesidad de transferencias de un tubo a otro. Se ha demostrado que otros métodos de extracción (p. ej., los kits Qiagen QIAamp) ofrecen resultados igualmente fiables.

El método InstaGene de extracción de DNA se describe a continuación.

Método de extracción InstaGene

Líquido amniótico
Deberán utilizarse aproximadamente 1-2 ml de líquido amniótico.

Vellosidades coriónicas
Las muestras de vellosidades coriónicas deberán limpiarse con cuidado para retirar la decidua materna adherente que pueda haber. Es importante analizar células de más de una región de la muestra y que estén representadas las células del núcleo mesenquimatoso. Para el análisis QST*R se recomienda una pequeña alícuota de la suspensión celular, como suele hacerse para la preparación de los cultivos celulares ordinarios. Esto garantiza que el resultado del QST*R se obtenga a partir de la misma población de células empleada para el análisis cariotípico.

1. Vuelva a suspender la matriz InstaGene en el agitador magnético y ajústelo a una velocidad mediana durante un mínimo de 5 minutos.

2. Centrifugue la muestra (de líquido amniótico o vellosidades coriónicas) a 12.000 g durante 1 minute para sedimentar las células.

3. Extraiga las muestras de la centrifugadora y examine visualmente el sedimento para comprobar si presenta tinción hemática. Registre el porcentaje de tinción hemática, si la hay.

4. Retire y deseche con cuidado el sobrenadante del sedimento, asegurándose de no alterar el sedimento. Deje aproximadamente 10-20 µl de sobrenadante detrás para volver a suspender la sedimentación.

5. Mezcle bien la muestra con un mezclador vórtex.

6. Si se observa una tinción hemática de más del 50 %, vaya al paso 7. Si se observa una tinción hemática de menos del 50 %, vaya al paso 8.

7. Añada 200 µl de agua desionizada estéril al sedimento celular. Mezcle bien con un mezclador vórtex. Centrifugue a 12.000 g durante 1 minuto y retire el sobrenadante, dejando 10-20 µl de sobrenadante detrás para volver a suspender el sedimento.
Nota: *Este paso de lavado adicional ayuda a lisar los glóbulos rojos y a eliminar el hemo que podría inhibir la RCP.*

8. Añada 200 µl de matriz InstaGene del paso 1 a las muestras utilizando una punta de pipeta de calibre grande, como 1000 µl.
Nota: *Para optimizar el protocolo de extracción, el volumen añadido de matriz InstaGene (resina Chelex-100) puede variarse utilizando 100 µl de matriz InstaGene para sedimentos celulares pequeños de líquido amniótico (apenas visibles), o 300 µl para sedimentos grandes (que cubran la base del tubo), vellosidades coriónicas y muestras de tejido. Registre la cantidad de matriz InstaGene añadida a cada muestra.*

9. Mezcle bien las muestras en un mezclador vórtex e incúbelas a 100 °C durante 8 minutos en un bloque térmico o un baño de agua.

10. Mezcle bien de nuevo en un mezclador vórtex a alta velocidad durante 10 segundos.

11. Centrifugue las muestras a 12.000 g durante 3 minutos. El sobrenadante contiene el DNA extraído.

12. Proceda a la preparación de la RCP o almacene el DNA extraído a –20 °C hasta que sea necesario.

Concentración del DNA

Se recomienda evaluar exhaustivamente los métodos de extracción de DNA y los tipos de muestras alternativos con la prueba Elucigene QST*R antes de que los resultados se utilicen para fines diagnósticos.

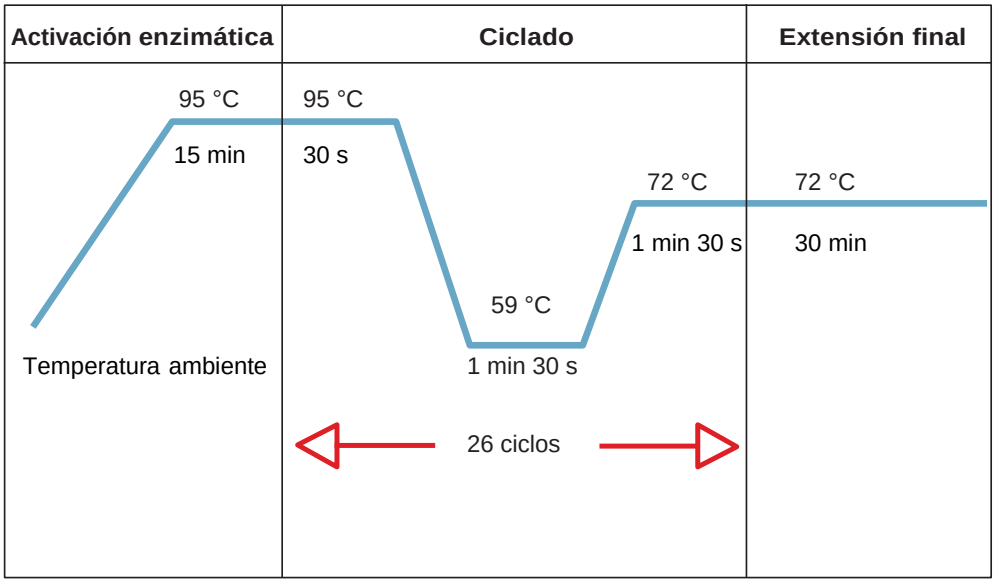
Cuando las condiciones de la RCP sean óptimas y se utilicen los ajustes de inyección de muestras recomendados* indicados en el módulo de ciclo de columnas capilares (página 13), se obtendrán regularmente resultados aceptables con cantidades de DNA de entrada de 1,25 ng a 10 ng.
***Nota:** Los ajustes de inyección de muestra pueden modificarse para adaptarse a la cantidad de amplicón producida durante la RCP, que puede variar debido a la cantidad añadida de DNA genómico de entrada. Puede aplicarse menos amplicón a la columna para análisis reduciendo el tiempo de inyección. A la inversa, puede aplicarse más amplicón a la columna para análisis aumentando el tiempo o el voltaje de inyección. Las muestras amplificadas previamente pueden reinyectarse en múltiples ocasiones para nuevos análisis.*

Protocolo de prueba

Procedimiento de amplificación

Cuando las muestras se extraigan empleando el método InstaGene, se recomienda utilizar sobrenadante sin diluir directamente en la reacción de RCP.
***Nota:** Para reducir al mínimo el riesgo de contaminación, los pasos del 3 al 5 deben llevarse a cabo en un área libre de DNA. También tienen que tomarse las medidas necesarias para evitar la contaminación con el producto para RCP.*

1. Programe el termociclador para un ciclo de paso único para activar la polimerasa DNA a 95 °C durante 15 minutos unido a un programa de ciclado de amplificación de 30 minuto a 95 °C (desnaturalización), 1 minutos y 30 segundos a 59 °C (hibridación) y 1 minuto y 30 segundos a 72 °C (extensión) durante 26 ciclos. Esto deberá asociarse a un archivo de retardo de tiempo de 30 minutos a 72 °C (extensión) en el ciclo final.



2. Debe incluirse un control negativo (agua) en cada ciclo de RCP. También puede considerarse adecuado incluir otros controles, p. ej., normal positivo (control de DNA suministrado) y control de trisomía positivo (DNA no suministrado).

3. Descongele suficientes viales de mezcla de reacción QST*R prealicuotada para el número de muestras y controles que se vayan a procesar (vea la nota en Materiales suministrados) y centrifugue los viales a 12.000 g durante 10 segundos.

4. Utilizando puntas de pipeta diferentes, añada 2,5 µl de DNA analítico a un vial para muestras con 10 µl de mezcla de reacción QST*R y mezcle pipeteando hacia arriba y hacia abajo. Haga esto con todas las muestras que desee analizar.
No añada DNA, sino 2,5 µl de agua estéril destilada, al vial para RCP del control negativo.
Nota: *Tenga cuidado para no contaminar la reacción de RCP con alguna resina InstaGene.*

5. Centrifugue brevemente los viales hasta que todo el líquido se encuentre en el fondo de cada vial.

6. Coloque todos los viales firmemente en el bloque del termociclador. Inicie el programa de activación a 95 °C seguido del programa de amplificación (consulte el paso 1).

7. Una vez terminado el programa de amplificación, las muestras pueden almacenarse a temperatura ambiente de un día a otro, o a 2-8 °C durante hasta 7 días, antes de realizar el análisis mediante electroforesis capilar.

Electroforesis capilar

Se recomienda que cada usuario se asegure de que el equipo elegido se utilice de acuerdo con las instrucciones del fabricante y sea compatible con esta prueba. En este contexto los parámetros clave son el polímero y el arsenal capilar. Pueden obtenerse resultados óptimos utilizando las siguientes condiciones de electroforesis capilar en un analizador genético ABI3130 o ABI3500.

1. Combine 6,85 µl del estándar de tamaño con 250 µl de formamida Hi-Di y mezcle bien (mezcla suficiente para 16 pocillos). Dispense 15 µl de la mezcla en el número necesario de pocillos de una placa óptica de 96 pocillos.

2. Añada 3 µl de producto para RCP para muestras analíticas a la mezcla de estándar de tamaño (del paso 1) ya dispensada en la placa y mezcle utilizando la pipeta. Cierre herméticamente la placa.

3. Desnaturalice el producto para RCP dispensado en la placa óptica en un termociclador utilizando los parámetros siguientes: 94 °C durante 3 minutos seguidos por 4 °C durante 30 segundos.

4. Centrifugue la placa a 1000 g durante 10 segundos para eliminar las burbujas de los pocillos y cárguela en el analizador genético.

ABI3130 GENETIC ANALYZER (ANALIZADOR GENÉTICO)

Cree una hoja de muestra utilizando el software de recogida de datos 3130 con los siguientes ajustes:

• Sample Name (Nombre de la muestra): Este debe ser el mismo nombre o número específicos de la muestra.

• Run Owner (Propietario del ciclo): Seleccione el propietario predeterminado correspondiente al laboratorio.

• Run Protocol (Protocolo del ciclo): QSTR (contiene módulo de ciclo QST*R 3130; véase más abajo)*.

Nota: *Es necesario crear un módulo de ciclo que detalle los ajustes del instrumento y asignarlo posteriormente a un protocolo de ciclo en el que se haya seleccionado el juego de colorantes G5. Para más información sobre la creación de módulos de ciclos, consulte el manual del usuario del instrumento.*

3130 RUN MODULE (MÓDULO DE CICLO)

PARA POLÍMERO POP7

Módulo capilar de 36 cm: QSTR

#	Parameter Name	Value	Range
1	Oven Temperature	60	int 18…65 Deg.C
2	Poly_fill_Vol.	6500	6500…38000 steps
3	Current Stability	5.0	int 0…2000 uAmps
4	PreRun_Voltage	15.0	0…15 kvolts
5	Pre_Run_Time	180	1…1000 sec.
6	Injection_Voltage	3.0	1…15 kvolts
7	Injection_Time	15	1…600 sec.
8	Voltage_Number_of_Steps	20	1…100 nk
9	Voltage_Step_Interval	15	1…60 sec.
10	Data_Delay_Time	60	1…3600 sec.
11	Run_Voltage	15.0	0…15 kvolts
12	Run_Time	1200	300…14000 sec.

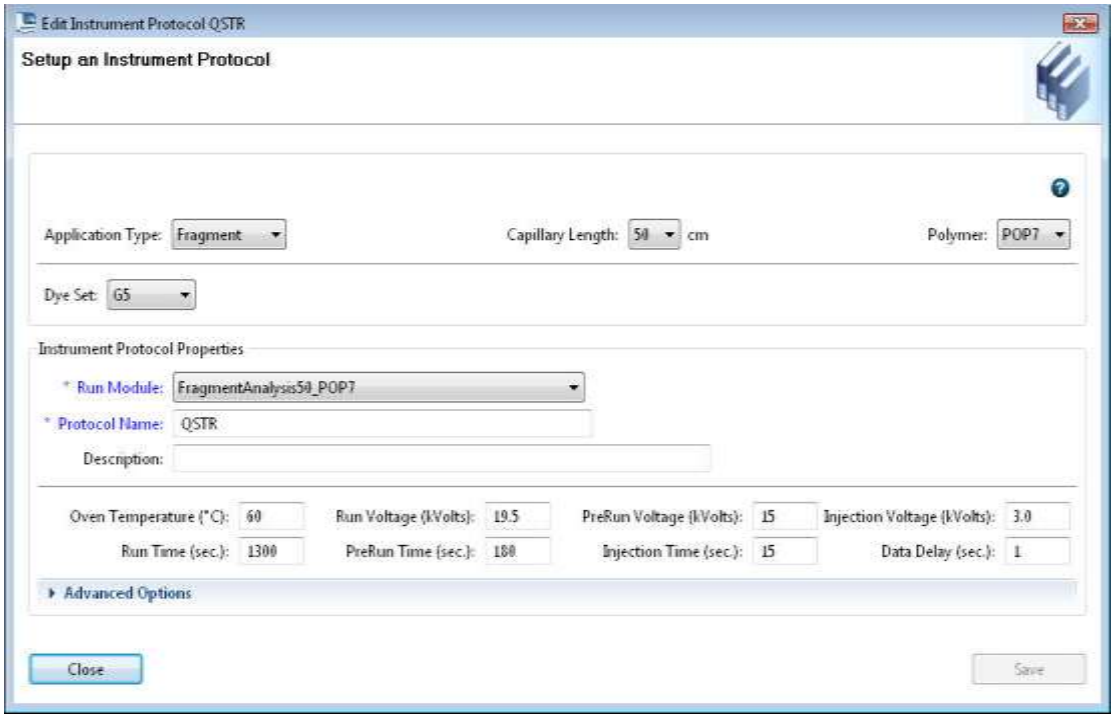
ABI3500 GENETIC ANALYZER (ANALIZADOR GENÉTICO)

Es necesario crear un protocolo de instrumento QSTR, que luego pueda utilizarse para cada ciclo QSTR. Cree el protocolo de instrumento QSTR usando la biblioteca de protocolos de instrumento 3500.

Asegúrese de que esté seleccionado lo siguiente:

• Run Module (Módulo de ciclo): FragmentAnalysis50_POP7

• Introduzca los ajustes detallados en la siguiente imagen:



Para procesar las muestras, cree una placa de muestras haciendo clic en «Create Plate from Template» (Crear placa a partir de plantilla) en el «Dashboard» (Panel de control), y asegúrese de que se haya asignado el protocolo de instrumento correcto para QSTR (véase más arriba).

Análisis e interpretación de los resultados

Se recomienda que cada laboratorio desarrolle sus propios procedimientos y criterios de interpretación y notificación. La Asscociation for Clinical Genetic Science del Reino Unido han elaborado unas pautas de prácticas óptimas de RCP-CF, que pueden consultarse en:

www.acgs.uk.com

Los productos para RCP se observan como un sistema marcado con 5 colorantes utilizando un juego de filtros G5. El juego de filtros G5 detecta los fragmentos marcados con 6-FAM (azul), VIC (verde), NED (amarillo) y PET (rojo), más el marcador de estándar de tamaño marcado con LIZ (naranja) en un electroforetograma y en el programa GeneMapper o GeneMarker.

Las guías de análisis por software de GeneMarker y GeneMapper están disponibles en el sitio web de Elucigene Diagnostics:
www.elucigene.com/products

La guía de análisis de GeneMapper ofrece detalles de los ajustes del software e instrucciones para la importación de datos analizados en una plantilla de informe de Excel. GeneMarker tiene una aplicación de análisis de trisomías que es compatible con Elucigene QST*R.

Nota importante: *Las diferentes combinaciones de instrumento, polímero y estándar de tamaño pueden hacer que la identificación de tamaños varíe ligeramente. Durante la validación del kit, los usuarios deberán comprobar que los ajustes de «bines» predeterminados den lugar a un etiquetado adecuado de los picos, y ajustarlos si es necesario. Si hay alguna dificultad, póngase en contacto con la asistencia técnica para obtener ayuda.*

Pautas generales de análisis para todos los kits QST*R

1. El control negativo no deberá mostrar picos agudos dentro del rango de lectura de 100 a 510 pb.

2. El control positivo debe mostrar los resultados esperados y todos los picos deben satisfacer los criterios indicados más abajo.

3. Para el análisis de muestras de DNA, deberá observarse al menos 1 pico por cada marcador analizado. El rango aceptable para los picos de marcadores analizados es de entre 50 y 6000 unidades fluorescentes relativas (rfu) en el analizador genético 3130, y de entre 175 y 32.000 rfu en los analizadores genéticos 3500. Las alturas de pico que caigan fuera de estos rangos no deben analizarse.

4. Los electroforetogramas de mala calidad debido a un exceso de traspaso («bleed-through») entre colores de colorantes o a «púas electroforéticas» (picos agudos presentes en más de un colorante) no deberán interpretarse. Los productos para RCP deberán volverse a inyectar y a analizar.

5. El análisis se realiza mediante la evaluación de razones de picos (A1/A2), donde A1 es el área de pico del fragmento de menor longitud y A2 es el área de pico del fragmento de mayor longitud. La razón resultante ofrece un diagnóstico del número de copias del locus. En el caso de los cromosomas disómicos, los marcadores heterocigóticos deberán mostrar dos picos con alturas similares. Para realizar un análisis completo del estado del

número de copias de los cromosomas se lleva a cabo una comparación de razones de áreas de picos.

6. Los marcadores dialélicos (esto es, de dos alelos) heterocigóticos deberán estar dentro de un intervalo de razón de 0,8 a 1,4. Sin embargo, en los casos de dos alelos separados por más de 24 pb en tamaño es aceptable una razón de hasta 1,5. Se considera que cualquier valor que caiga dentro de esta región tiene una razón de 1:1. Si el equilibrio de la razón cae fuera de este intervalo, ello puede deberse a diversos factores, tales como:

- Trisomía total del cromosoma
- Trisomía parcial del cromosoma (incluidas las duplicaciones submicroscópicas)
- Mosaicismo
- Segundo genotipo contaminante (p. ej., materno, gemelo o externo)
- Bandas sombra («stutters») que causan razones alteradas («skewing»)
- Amplificación preferente de un alelo que produce razones alteradas («skewing»)
- Polimorfismos de los lugares de los cebadores
- Mutaciones de microsatélites somáticos

La **Guide to Interpretation** (Guía de la interpretación) ofrece ejemplos de perfiles típicos de muchos de estos. Los marcadores homocigóticos son no informativos, ya que no puede determinarse una razón.

7. Para interpretar un resultado como anormal, (esto es, con presencia de trisomía) es necesario que al menos dos marcadores informativos sean indicativos de un genotipo trialélico y que todos los demás marcadores sean no informativos. No se recomienda interpretar un resultado como anormal sobre la base de información de un solo marcador. Si es necesario, los análisis de seguimiento con los kits de cromosoma único (esto es, Elucigene QST*R-13, Elucigene QST*R-18 y Elucigene QST*R-21) pueden ofrecer información suficiente para la interpretación.

La trisomía se determina por una de las dos condiciones siguientes:

7.1. Dos picos de altura desigual debido a que uno de los picos representa dos alelos comunes a uno o a ambos padres. En este caso, la razón entre los dos picos se clasificará como 2:1 o 1:2, de forma que A1/A2 dará un resultado en la región de 1,8 a 2,4 cuando el pico que represente el alelo de menor longitud tenga un área mayor que el pico que represente el alelo de mayor longitud, y un resultado en la región de 0,45 a 0,65 cuando el pico que represente el alelo de menor longitud tenga un área menor que el pico que represente el alelo de mayor longitud.

7.2. Presencia de tres picos de altura similar. La razón de los picos se clasificará como 1:1:1 y sus valores caerán dentro del rango normal de 0,8 a 1,4 (aunque para los alelos separados por más de 24 pb es aceptable una razón alélica de hasta 1,5). Si esto no ocurre, puede deberse a uno de los factores mencionados en el paso 6.

8. Para interpretar un resultado como normal, es necesario que al menos dos marcadores informativos sean indicativos de un genotipo dialélico y que todos los demás marcadores sean no informativos. Un resultado normal indica el complemento normal de dos de los cromosomas analizados.

9. Las razones de áreas de picos que caigan entre los rangos normal y anormal se clasifican como no concluyentes. Los resultados no concluyentes pueden resolverse utilizando los kits de cromosoma único.

10. Si se obtienen patrones alélicos tanto normales como anormales para un cromosoma, se recomienda realizar estudios de seguimiento para identificar la razón de los resultados discrepantes antes de llegar a ninguna conclusión.

11. En casos infrecuentes, los rangos de los tamaños de los alelos correspondientes a los marcadores pueden solaparse. Si se sospecha esto, el análisis con los kits de cromosoma único pueden resolver esto.

Específico para los marcadores QST*R-XYv2 y de los cromosomas sexuales en QST*R*plus*v2

1. El marcador AMEL amplifica secuencias no polimórficas de los cromosomas X (104 pb) e Y (110 pb), puede utilizarse para determinar la presencia o ausencia de un cromosoma Y y representa la cantidad relativa de secuencia de X a Y. Tenga en cuenta que en raras ocasiones se ha observado un fallo de la amplificación debido a la mutación de la secuencia AMEL-Y.

2. TAF9L es un marcador parálogo invariante con secuencias en los cromosomas 3 y X. Por ello, el pico específico del cromosoma 3 (116 pb, que representa 2 copias del cromosoma 3) puede utilizarse como un pico de referencia para facilitar la determinación del número de cromosomas X presentes (pico de 121 pb). Analizado en combinación con la amelogenina y los otros marcadores de los cromosomas sexuales, es particularmente útil en el diagnóstico de la aneuploidía de los cromosomas sexuales. En una mujer normal, los marcadores deberán estar dentro de un intervalo de razón de 0,8 a 1,4. En un varón normal o monosomía X, los marcadores darán una razón ≥1,8. En la Guide to Interpretation (Guía de la interpretación) se ofrecen más detalles sobre la interpretación del marcador TAF9L.

3. Los marcadores de las STR polimórficas DXYS267 y DXYS218 están presentes en los cromosomas X e Y, y representan el número total de cromosomas sexuales. En el caso de los resultados informativos de varones, no es posible determinar qué alelo representa el cromosoma X o el Y.

4. Los marcadores informativos específicos de X DXS981, DXS1187, XHPRT, DXS6807, DXS7423, DXS6803 y DXS6809 representan el número de cromosomas X.

5. El marcador específico de Y SRY dará un solo pico en varones normales y no se amplificará en las mujeres normales.

6. En la mayoría de los casos, el marcador específico de Y DYS448 dará un solo pico en varones normales y no se amplificará en las mujeres normales. Se ha observado que, en raras ocasiones, este marcador puede demostrar un patrón dialélico hereditario (duplicación submicroscópica seguida de deslizamiento de cadena durante la replicación [«replication slippage»]) o no mostrará amplificación (alelo nulo).

7. Un resultado que no presente amplificación para los marcadores específicos de Y y que sea homocigótico en todos los demás marcadores no es necesariamente un indicador diagnóstico de síndrome de Turner. Sobre la base de los datos publicados, aproximadamente 1 de cada 170.000 mujeres serán homocigóticas para los 7 marcadores polimórficos específicos de X. Esto arroja una probabilidad bayesiana de aproximadamente 1 en 1400 de que un perfil homocigótico para todos los marcadores específicos de X represente un genotipo de monosomía X verdadero, en vez de una mujer homocigótica normal.

Características de rendimiento

VALIDACIÓN INTERNA

QST*R*plus*v2

Se analizaron a ciegas 98 muestras utilizando Elucigene QST*R*plus*v2. De estas, 22 fueron normales/XY, 17 fueron normales/XX, 12 fueron trisomía 21/XY, 7 fueron trisomía 21/XX, 9 fueron trisomía 18/XY, 8 fueron trisomía 18/XX, 2 fueron trisomía 13/XY, 4 fueron trisomía 13/XX, 8 fueron normales/X0, 1 fue normal/XYY y 1 fue triploide para todos los cromosomas analizados.
Una muestra arrojó un resultado no informativo. Seis muestras no arrojaron resultados analizables debido a la mala calidad de las muestras. Todos los resultados analizables mostraron una especificidad y una sensibilidad del 100 % con resultados obtenidos previamente mediante un método alternativo establecido.

QST*R

Se analizaron a ciegas 312 muestras utilizando Elucigene QST*R. De estas, 286 fueron normales, 2 mostraron trisomía 13, 7 mostraron trisomía 18, 13 mostraron trisomía 21 y 2 fueron triploides para los 3 cromosomas analizados. Una muestra mostró contaminación de células maternas que impidió el análisis, y una muestra no arrojó un resultado interpretable a pesar de la amplificación repetida. En total, 310 muestras arrojaron resultados analizables. Todas las muestras analizables mostraron una especificidad y una sensibilidad del 100 % con resultados obtenidos previamente mediante cariotipificación.

QST*R-XYv2

Se analizaron a ciegas 321 muestras utilizando Elucigene QST*R-XYv2. De estas, 160 fueron varones normales, 147 fueron mujeres normales, 3 mostraron monosomía X, 2 mostraron XXY, 2 mostraron XYY y 1 mostró XXX. Seis muestras no arrojaron un resultado interpretable a pesar de la amplificación repetida. En total, 315 muestras arrojaron resultados analizables. Todas las muestras analizables mostraron una especificidad y una sensibilidad del 100 % con resultados obtenidos previamente mediante cariotipificación.

QST*R-13

Se analizaron a ciegas 152 muestras utilizando Elucigene QST*R-13. De estas, 144 fueron normales y 2 mostraron trisomía 13. Seis muestras no arrojaron un resultado interpretable a pesar de la amplificación repetida. Todas las muestras analizables mostraron una especificidad y una sensibilidad del 100 % con resultados obtenidos previamente mediante cariotipificación.

QST*R-18

Se analizaron a ciegas 152 muestras utilizando Elucigene QST*R-18. De estas, 143 fueron normales y 4 mostraron trisomía 18. Cinco muestras no ofrecieron un resultado interpretable a pesar de la amplificación repetida. Todas las muestras analizables mostraron una especificidad y una sensibilidad del 100 % con resultados obtenidos previamente mediante cariotipificación.

QST*R-21

Se analizaron a ciegas 152 muestras utilizando Elucigene QST*R-21. De estas, 148 fueron normales y 2 mostraron trisomía 21. Dos muestras no ofrecieron un resultado interpretable a pesar de la amplificación repetida. Todas las muestras analizables mostraron una especificidad y una sensibilidad del 100 % con resultados obtenidos previamente mediante cariotipificación.

APÉNDICE 1: EJEMPLOS

Elucigene QST*R*plus*v2

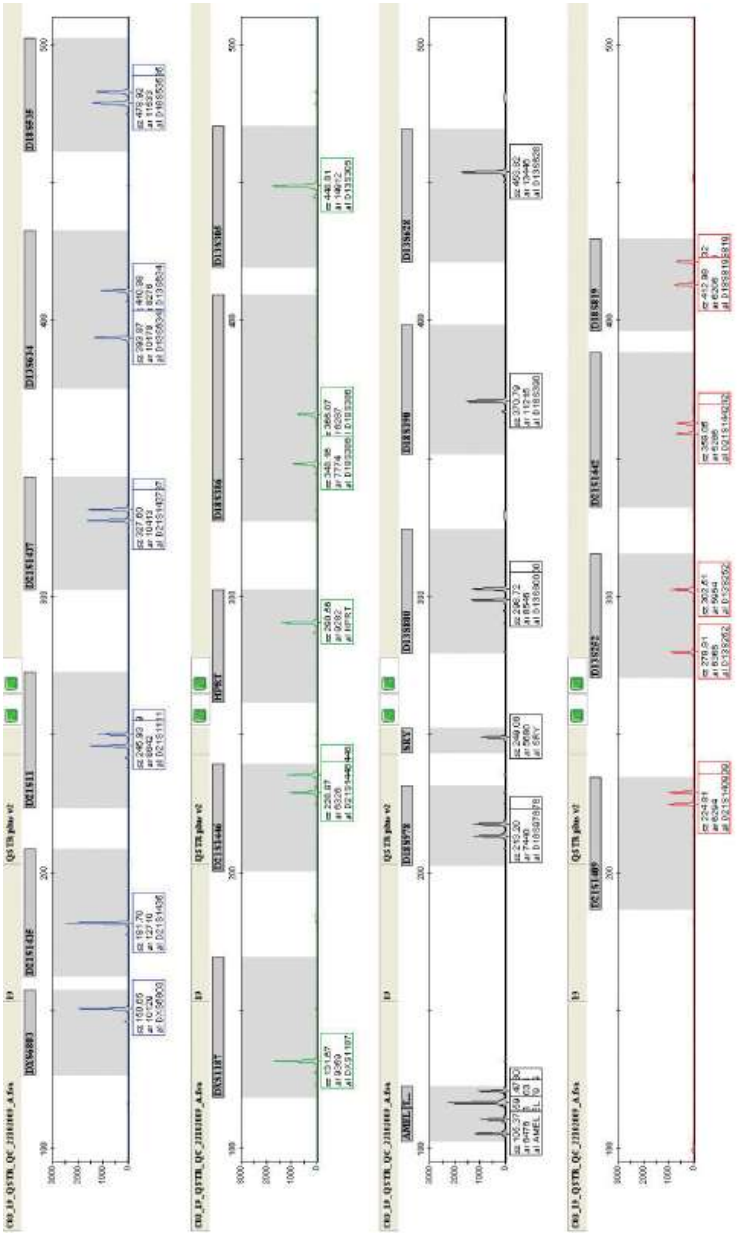
Los marcadores están etiquetados de la forma siguiente:

6-FAM	VIC	NED	PET
DXS6803	DXS1187	AMEL	D21S1409
D21S1435	D21S1446	TAF9L	D13S252
D21S11	XHPRT	D18S978	D21S1442
D21S1437	D18S386	SRY	D18S819
D13S634	D13S305	D13S800	
D18S535		D18S390	
		D13S628	

Consulte el apéndice 2 para obtener más detalles de los marcadores de STR, incluidos los rangos de tamaño.

Elucigene QST*R*plus*v2 - GENEMAPPER

Ejemplo de un perfil QST*R*plus*v2 de varón normal que muestra la posición relativa de los marcadores detectados.



Elucigene QST*R

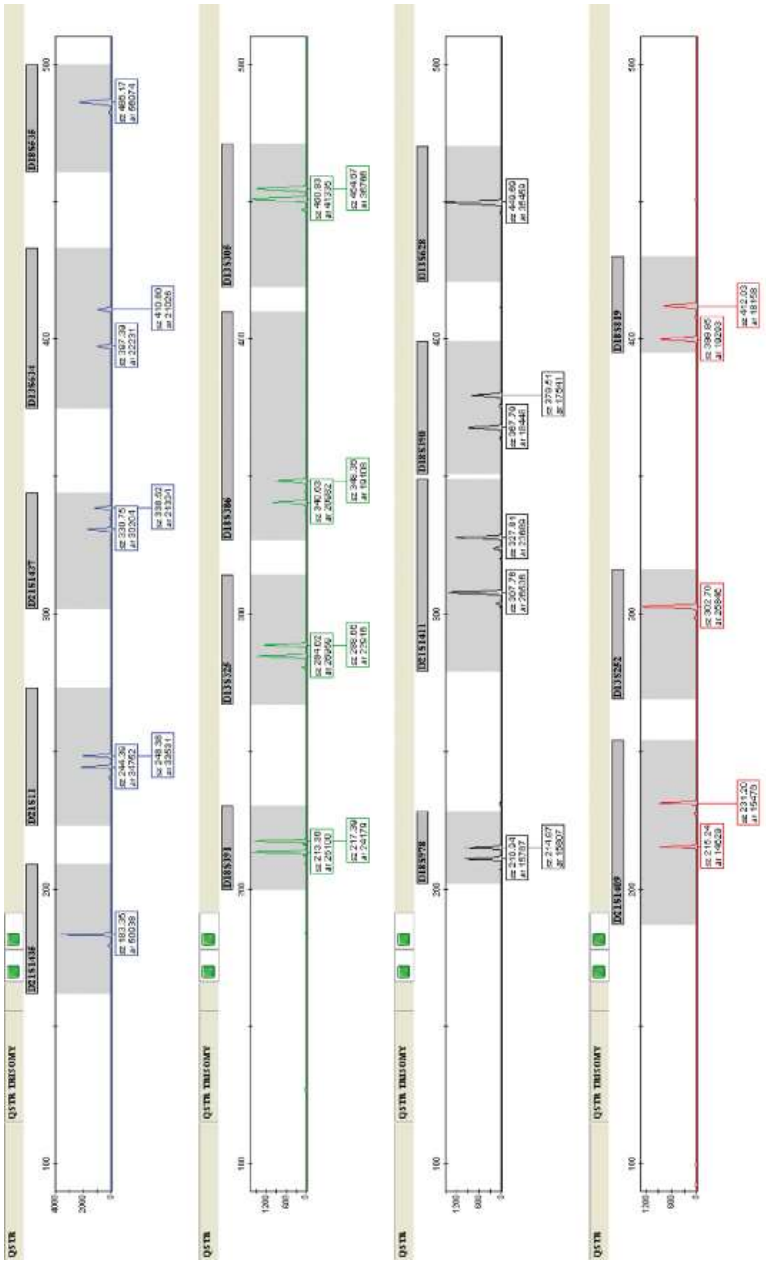
Los marcadores están etiquetados de la forma siguiente:

6-FAM	VIC	NED	PET
D21S1435	D18S391	D18S978	D21S1409
D21S11	D18S325	D21S1411	D13S252
D21S1437	D18S386	D18S390	D18S819
D13S634	D13S305	D13S628	
D18S535			

Consulte el apéndice 2 para obtener más detalles de los marcadores de STR, incluidos los rangos de tamaño.

Elucigene QST*R - GENEMAPPER

Ejemplo de un perfil QST*R normal que muestra la posición relativa de los marcadores detectados.



Elucigene QST*R-XYv2

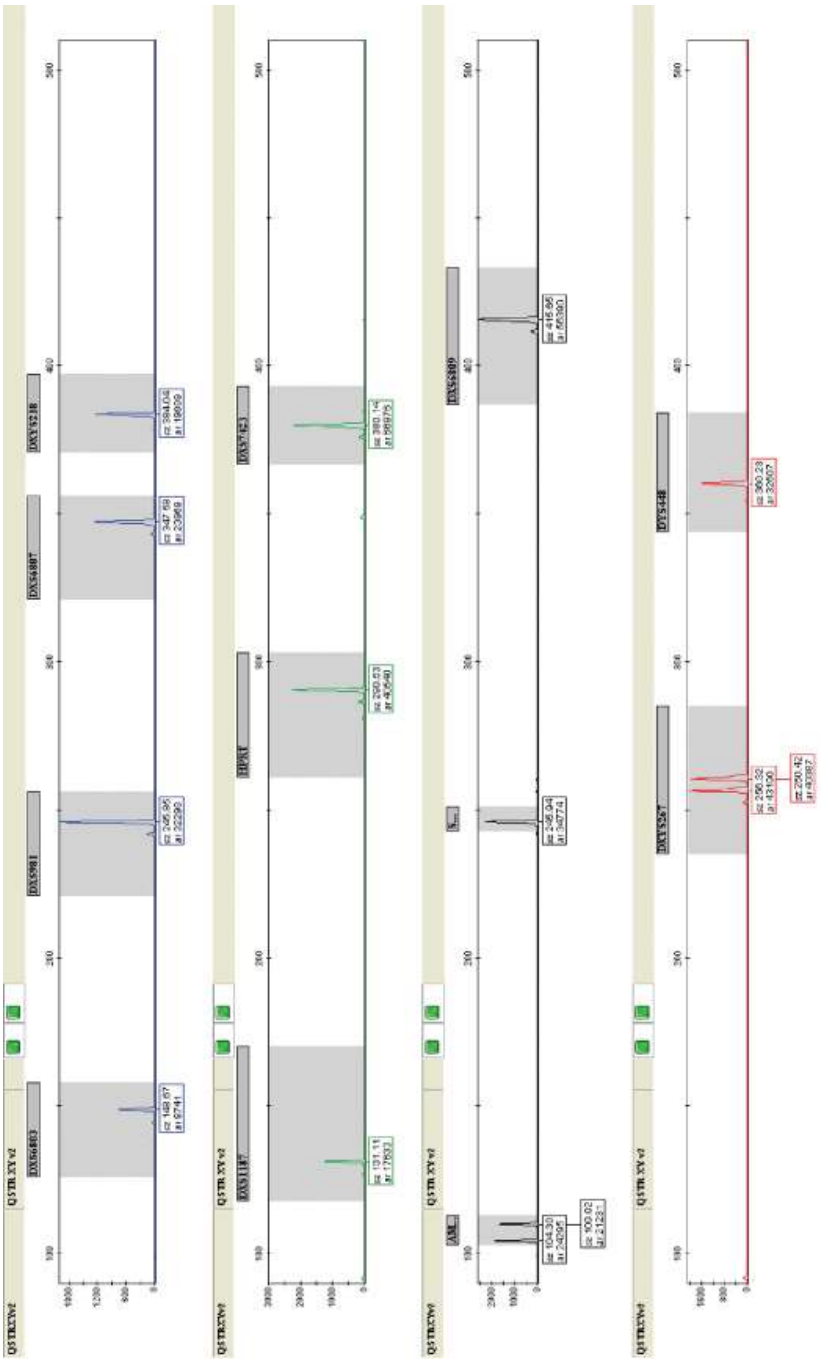
Los marcadores están etiquetados de la forma siguiente:

6-FAM	VIC	NED	PET
DXS6803	DXS1187	AMEL	DXYS267
DXS981	XHPRT	SRY	DYS448
DXS6807	DXS7423	DXS6809	
DXYS218			

Consulte el apéndice 2 para obtener más detalles de los marcadores de STR, incluidos los rangos de tamaño.

Elucigene QST*R-XYv2 - GENEMAPPER

Ejemplo de un perfil QST*R-XYv2 de varón normal que muestra la posición relativa de los marcadores detectados.



Elucigene QST*R-21

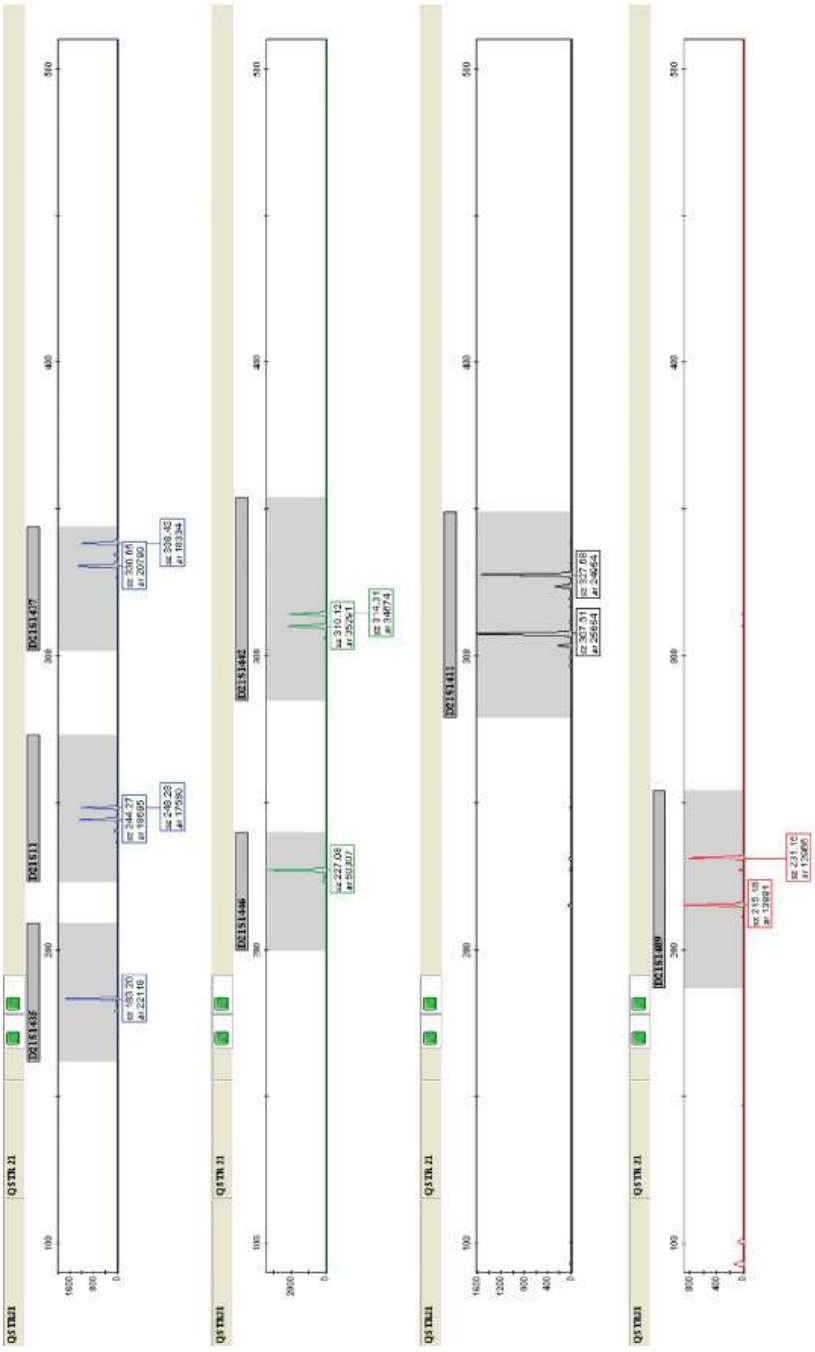
Los marcadores están etiquetados de la forma siguiente:

6-FAM	VIC	NED	PET
D21S1435	D21S1446	D21S1411	D21S1409
D21S11	D21S1442		
D21S1437			

Consulte el apéndice 2 para obtener más detalles de los marcadores de STR, incluidos los rangos de tamaño.

Elucigene QST*R-21 - GENEMAPPER

Ejemplo de un perfil QST*R-21 normal que muestra la posición relativa de los marcadores detectados.



Elucigene QST*R-18

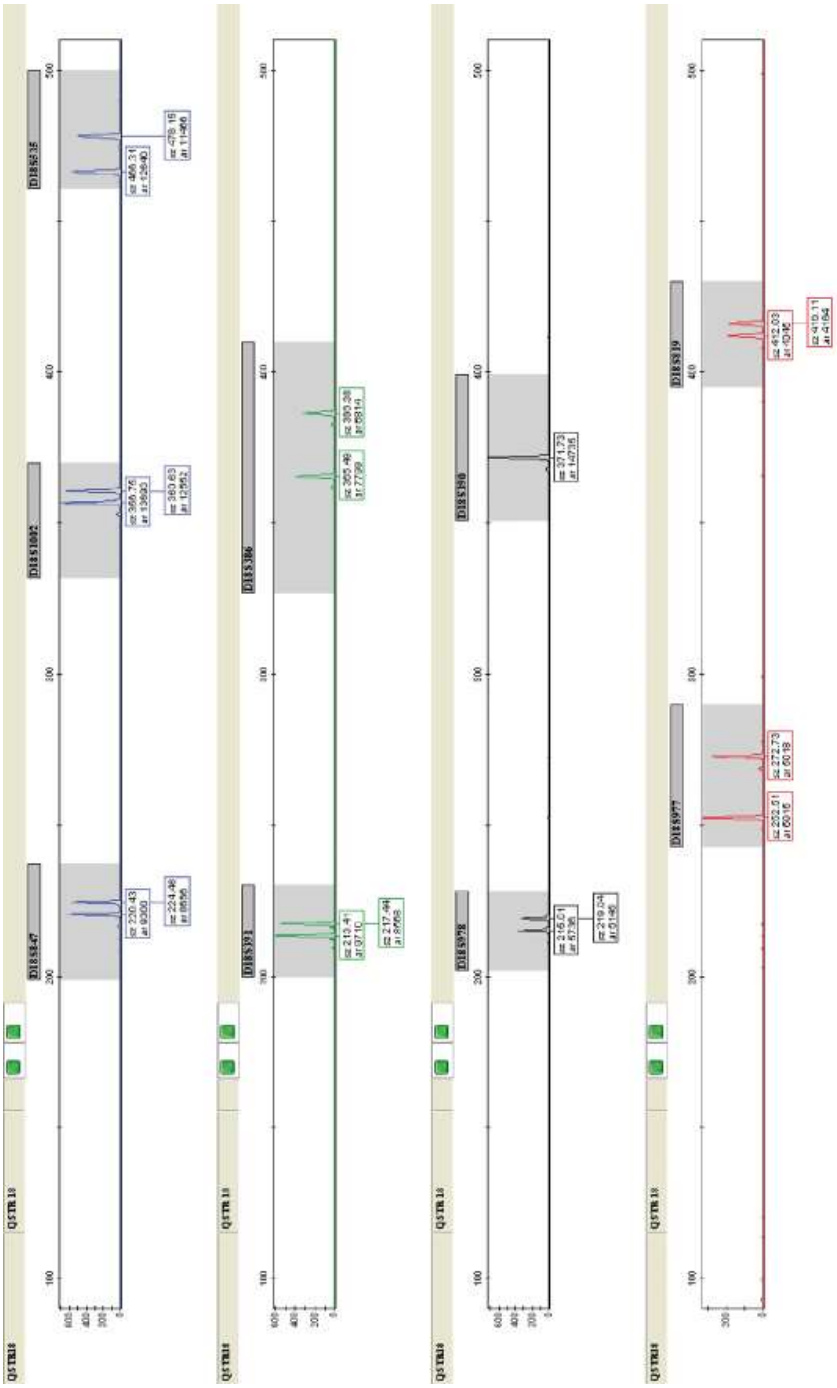
Los marcadores están etiquetados de la forma siguiente:

6-FAM	VIC	NED	PET
D18S847	D18S391	D18S978	D18S977
D18S1002	D18S386	D18S390	D18S819
D18S535			

Consulte el apéndice 2 para obtener más detalles de los marcadores de STR, incluidos los rangos de tamaño.

Elucigene QST*R-18 - GENEMAPPER

Ejemplo de un perfil QST*R-18 normal que muestra la posición relativa de los marcadores detectados.



Elucigene QST*R-13

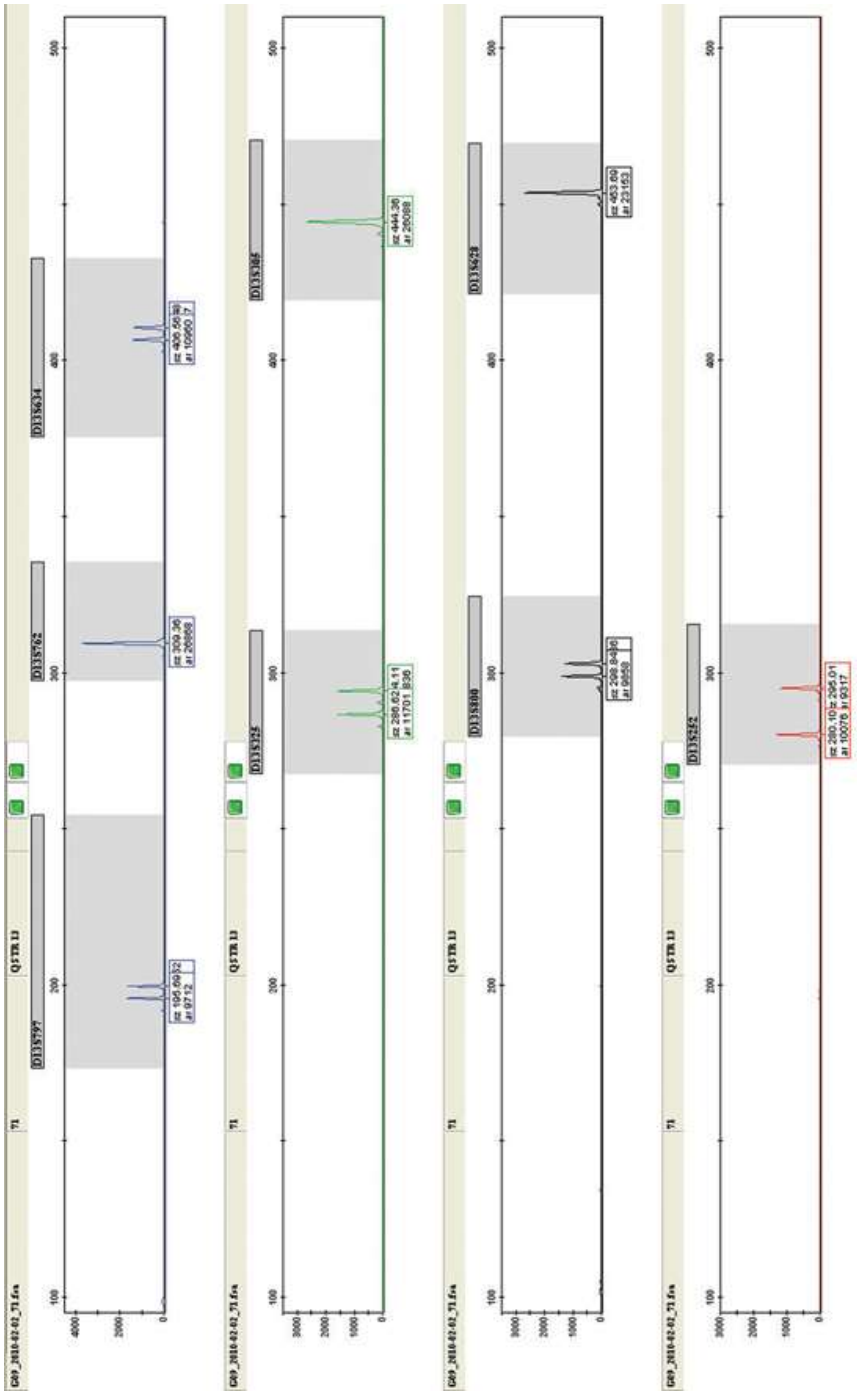
Los marcadores están etiquetados de la forma siguiente:

6-FAM	VIC	NED	PET
D13S797	D13S325	D13S800	D13S252
D13S762	D13S305	D13S628	
D13S634			

Consulte el apéndice 2 para obtener más detalles de los marcadores de STR, incluidos los rangos de tamaño.

Elucigene QST*R-13 - GENEMAPPER

Ejemplo de un perfil QST*R-13 normal que muestra la posición relativa de los marcadores detectados.



APÉNDICE 2: TABLAS DE LOS MARCADORES UTILIZADOS

***Nota**: El colorante NED utilizado en los kits se identifica espectralmente como un colorante amarillo. Se muestra normalmente en caracteres negros para ofrecer mayor claridad.*

Las heterocigosidades observadas se basan en el número de alelos observados con el panel de validación de Elucigene Diagnostics. Por lo tanto, estas cifras pueden diferir de los datos publicados y también pueden variar de acuerdo con la población que se esté analizando.

Tabla 1. Marcadores utilizados en el Elucigene QST*R*plus*v2

Marcador	Ubicación	Heterocigosidad observada*	Rango de tamaño de los alelos (pb)	Color del colorante del marcador
D13S252	13q12.2	0,74	274-311	rojo
D13S305	13q13.3	0,79	424-466	verde
D13S634	13q21.33	0,84	380-428	azul
D13S800	13q22.1	0,72	284-320	amarillo
D13S800	13q22.1	0,75	426-465	amarillo
D18S819	18q11.2	0,73	400-425	rojo
D18S535	18q12.3	0,77	466-498	azul
D18S978	18q12.3	0,71	207-223	amarillo
D18S386	18q22.1	0,92	332-405	verde
D18S390	18q22.3	0,69	356-394	amarillo
D21S11	21q21.1	0,82	228-279	azul
D21S1437	21q21.1	0,76	307-347	azul
D21S1409	21q21.2	0,74	191-239	rojo
D21S1442	21q21.3	0,85	332-389	rojo
D21S1435	21q21.3	0,74	167-204	azul
D21S1446	21q22.3	0,76	205-235	verde
AMEL	Xp22.22/Yp11.2	n/a	104/110	amarillo
TAF9L	3p24.2/Xq21.1	n/a	116/121	amarillo
DXS6803	Xq21.31	0,86	131-153	azul
XHPRT	Xq26.2	0,72	266-298	verde
DXS1187	Xq26.2	0,73	123-165	verde
SRY	Yp11.31	n/a	248	amarillo

Tabla 2. Marcadores utilizados en el Elucigene QST*R

Marcador	Ubicación	Heterocigosidad observada*	Rango de tamaño de los alelos (pb)	Color del colorante del marcador
D13S252	13q12.2	0,74	274-311	rojo
D13S305	13q13.3	0,79	424-466	verde
D13S325	13q14.11	0,80	272-309	verde
D13S634	13q21.33	0,84	380-428	azul
D13S628	13q31.1	0,75	426-465	amarillo
D18S391	18p11.31	0,70	205-225	verde
D18S819	18q11.2	0,73	400-425	rojo
D18S535	18q12.3	0,77	466-498	azul
D18S978	18q12.3	0,71	207-223	amarillo
D18S386	18q22.1	0,92	332-405	verde
D18S390	18q22.3	0,69	356-394	amarillo
D21S11	21q21.1	0,82	228-279	azul
D21S1437	21q21.1	0,76	307-347	azul
D21S1409	21q21.2	0,74	191-239	rojo
D21S1435	21q21.3	0,74	167-204	azul
D21S1411	21q22.3	0,83	283-344	amarillo

Tabla 3. Marcadores utilizados en el Elucigene QST*R-XYv2

Marcador	Ubicación	Heterocigosidad observada*	Rango de tamaño de los alelos (pb)	Color del colorante del marcador
DXYS218	Xp22.32/Yp11.3	0,74	376-392	azul
AMEL	Xp22.22/Yp11.2	n/a	104-110	amarillo
DXYS267	Xq21.31/Yp11.31	0,75	240-280	rojo
DXS6807	Xp22.3	0,66	326-351	azul
DXS981	Xq13.1	0,73	226-260	azul
DXS6803	Xq21.31	0,86	131-153	azul
DXS6809	Xq21.33	0,78	392-436	amarillo
DXS1187	Xq26.2	0,73	123-165	verde
XHPRT	Xq26.2	0,72	266-298	verde
DXS7423	Xq28	0,67	360-388	verde
SRY	Yp11.31	n/a	248	amarillo
DYS448	Yq11.223	n/a	349-372	rojo

Tabla 4. Marcadores utilizados en el Elucigene QST*R-21

Marcador	Ubicación	Heterocigosidad observada*	Rango de tamaño de los alelos (pb)	Color del colorante del marcador
D21S11	21q21.1	0,82	228-279	azul
D21S1437	21q21.1	0,76	307-347	azul
D21S1409	21q21.2	0,74	191-239	rojo
D21S1442	21q21.3	0,85	290-349	verde
D21S1435	21q21.3	0,74	167-204	azul
D21S1411	21q22.3	0,83	283-344	amarillo
D21S1446	21q22.3	0,76	205-235	verde

Tabla 5. Marcadores utilizados en el Elucigene QST*R-18

Marcador	Ubicación	Heterocigosidad observada*	Rango de tamaño de los alelos (pb)	Color del colorante del marcador
D18S391	18p11.31	0,70	205-225	verde
D18S1002	18q11.2	0,76	337-365	azul
D18S819	18q11.2	0,73	400-425	rojo
D18S847	18q12.1	0,71	204-232	azul
D18S535	18q12.3	0,77	466-498	azul
D18S978	18q12.3	0,71	207-223	amarillo
D18S977	18q21.31	0,70	248-285	rojo
D18S386	18q22.1	0,92	332-405	verde
D18S390	18q22.3	0,69	356-394	amarillo

Tabla 6. Marcadores utilizados en el Elucigene QST*R-13

Marcador	Ubicación	Heterocigosidad observada*	Rango de tamaño de los alelos (pb)	Color del colorante del marcador
D13S252	13q12.2	0,74	274-311	rojo
D13S305	13q13.3	0,79	424-466	verde
D13S325	13q14.11	0,80	272-309	verde
D13S634	13q21.33	0,84	380-428	azul
D13S800	13q22.1	0,72	284-320	amarillo
D13S628	13q31.1	0,75	426-465	amarillo
D13S762	13q31.3	0,75	302-331	azul
D13S797	13q33.2	0,77	178-250	azul

Limitaciones del procedimiento

Esta prueba está diseñada para detectar trisomías cromosómicas específicas y aneuploidías de los cromosomas sexuales de la manera detallada en las instrucciones de uso. Es posible que no detecte reorganizaciones estructurales en los cromosomas analizados, y no detectará anomalías en ningún otro cromosoma. Es posible que no se detecte mosaicismo para los cromosomas analizados. Los resultados del QST*R solo pueden aplicarse directamente al tejido analizado, y pueden no representar al cariotipo fetal. La contaminación celular materna y el mosaicismo placentario confinado pueden dar lugar a discrepancias entre los resultados del QST*R y del cariotipo.

Nota: *Las heterocigosidades de los marcadores utilizados se derivaron de un conjunto aleatorio de muestras provenientes de una población predominantemente de raza blanca del norte de Europa y enviadas para el análisis sistemático. Cualquier cálculo que utilice estas heterocigosidades estrictamente solo puede aplicarse a la población de la que se tomaron las muestras. Puede realizarse un pequeño estudio que utilice muestras obtenidas localmente como parte de un estudio de validación para establecer las heterocigosidades de la población que se desee analizar. No se espera que la variación de la población altere considerablemente la informatividad global del ensayo.*

Descargo de responsabilidad

Los resultados de este y otros ensayos diagnósticos deberán interpretarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio de los que disponga el médico.

Estos reactivos de Elucigene se suministran para pruebas de diagnóstico in vitro.

Hay más detalles de los productos Elucigene QST*R disponibles en:
www.gen-probe.com/global/products-services/

Referencias

1. CG Antenatal Care: full guidelines (Corrected June 2008) UK National Institute for Health and Clinical Excellence
2. O'Connor, C. (2008) Trisomy 21 Causes Down syndrome. Nature Education 1(1).
3. Mansfield E S. Diagnosis of Down syndrome and other aneuploidies using quantitative polymerase chain reaction and small tandem repeat polymorphisms. Human Molecular Genetics 1993 2(1): 43-50
4. Mann K, Fox SP, Abbs SJ, Yau SC, Scriven PN, Docherty Z, Mackie Ogilvie C. Development and implementation of a new rapid aneuploidy diagnostic service within the UK National Health Service and implications for the future of prenatal diagnosis. The Lancet 2001 358 (9287): 1057-1061
5. Mann K, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Mackie Ogilvie C. Strategies for the rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidy. European Journal of Human Genetics 2004 12: 907-915
6. Mackie Ogilvie C, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Mann K. Rapid prenatal diagnosis of an aneuploidy using Quantitative Fluorescence-PCR (QF-PCR). Journal of Histochemistry and Cytochemistry 2005 53(3): 285-288
7. Deutsch S, Choudhury U, Merla G, Howald C, Sylvan A, Antonarakis SE. Detection of aneuploidies by paralogous sequence quantification. Journal of Medical Genetics 2004 41: 908-915

ELUCIGENE y QST*R son marcas comerciales de Delta Diagnostics (UK) Ltd.

GENEMAPPER, GENESCAN, VIC, PET, NED, LIZ, POP-7 y HI-DI son marcas comerciales de Life Technologies Corporation. QIAAMP es una marca comercial de Qiagen Gmbh. GENEMARKER es una marca comercial de SoftGenetics Corporation. INSTAGENE es una marca comercial de Bio-Rad Laboratories Inc.

Nota al comprador: Licencia limitada
Los polinucleótidos marcados con los colorantes VIC, NED y PET, así como su uso, podrían estar cubiertos por una o más de las patentes propiedad de Applied Biosystems, LLC. El precio de compra de este producto incluye derechos limitados, no transferibles, bajo determinadas reclamaciones de ciertas patentes propiedad de Applied Biosystems, LLC para usar solo esta cantidad del producto únicamente para actividades del comprador en detección de dianas dentro del campo del diagnóstico humano. No se transfieren otros derechos. Si desea información adicional sobre la compra de licencias en referencia a los colorantes anteriormente mencionados, póngase en contacto con el director de licencias en la dirección siguiente: outlicensing@lifetech.com.

Copyright © 2014 Delta Diagnostics (UK) Ltd.